

## PATENT COOPERATION TREATY-

PCT

## NOTIFICATION OF ELECTION

(PCT Rule 61.2)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

Assistant Commissioner for Patents  
United States Patent and Trademark  
Office  
Box PCT  
Washington, D.C.20231  
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

in its capacity as elected Office

|   |  |
|---|--|
| <b>Date of mailing (day/month/year)</b><br>25 August 2000 (25.08.00)            | <b>Applicant's or agent's file reference</b><br>IEC990019PCT         |
| <b>International application No.</b><br>PCT/CN00/00010                          | <b>Priority date (day/month/year)</b><br>11 February 1999 (11.02.99) |
| <b>International filing date (day/month/year)</b><br>21 January 2000 (21.01.00) |  |
| <b>Applicant</b><br>YE, Wencai et al  |  |

1. The designated Office is hereby notified of its election made:

☒ in the demand filed with the International Preliminary Examining Authority on:  
01 August 2000 (01.08.00)

☐ in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:  
\_\_\_\_\_

2. The election ☒ was  
☐ was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

|   |   |
|---|---|
| The International Bureau of WIPO<br>34, chemin des Colombettes<br>1211 Geneva 20, Switzerland<br>Facsimile No.: (41-22) 740.14.35 | Authorized officer<br><br>Olivia RANAIVOJAONA<br>Telephone No.: (41-22) 338.83.38 |
|---|---|





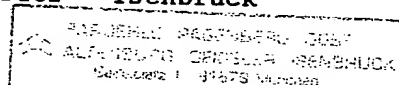
P.B. 5818 - Patentlaan 2  
2280 HV Rijswijk (ZH)  
☎ +31 70 340 2040  
TX 31651 epo nl  
FAX +31 70 340 3016

Eur pälsch s  
Pat ntamt  
Eingangs-  
stelle

European  
Patent Office  
Receiving  
Section

Office européen  
d s br vets  
Section de  
Dépôt

Ricker, Mathias, Dr. Dipl.-Chem.  
Patent- und Rechtsanwälte  
Bardehle - Pagenberg - Dost  
- Altenburg - Geissler - Isenbruck  
Postfach 86 06 20  
81633 München  
ALLEMAGNE



WF

29 April 2002  
Frist 04.07.02  
Saarb. 04.06.02

1 Seite(n) gescannt



Datum/Date

24-04-2002

|  |   |
|--|---|
| Zeichen/Ref./Réf.<br><b>C36439PCEP RI/M</b>  | Anmeldung Nr./Application No./Demande n°/Patent Nr./Patent No./Brevet n°.<br><b>00901035.6-2110- PCT/CN00000010</b> |
| Anmelder/Applicant/Demandeur/Patentinhaber/Proprietor/Titulaire<br><b>Shandong Luye Pharmaceutical Co., Ltd.</b> |   |

PROCEEDING FURTHER WITH THE EUROPEAN PATENT APPLICATION PURSUANT TO  
ARTICLE 96(1) AND RULE 51(1) EPC

A supplementary European search report has been drawn up concerning  
the above European patent application (publication no. 1176149).

Since you have filed a request for examination prior to the trans-  
mission of the supplementary European search report, you are hereby  
invited to indicate within

TWO MONTHS

of notification of this invitation whether you desire to proceed  
further with the European patent application.

If you do not indicate in due time that you desire to proceed further  
with the European patent application, it will be deemed to be withdrawn  
(Art. 96(3) EPC).

If you wish you may comment on the supplementary European search report  
and amend, where appropriate, the description, claims and drawings  
(Rule 51(1) EPC).

RECEIVING SECTION

Block, Helga



REGISTERED LETTER

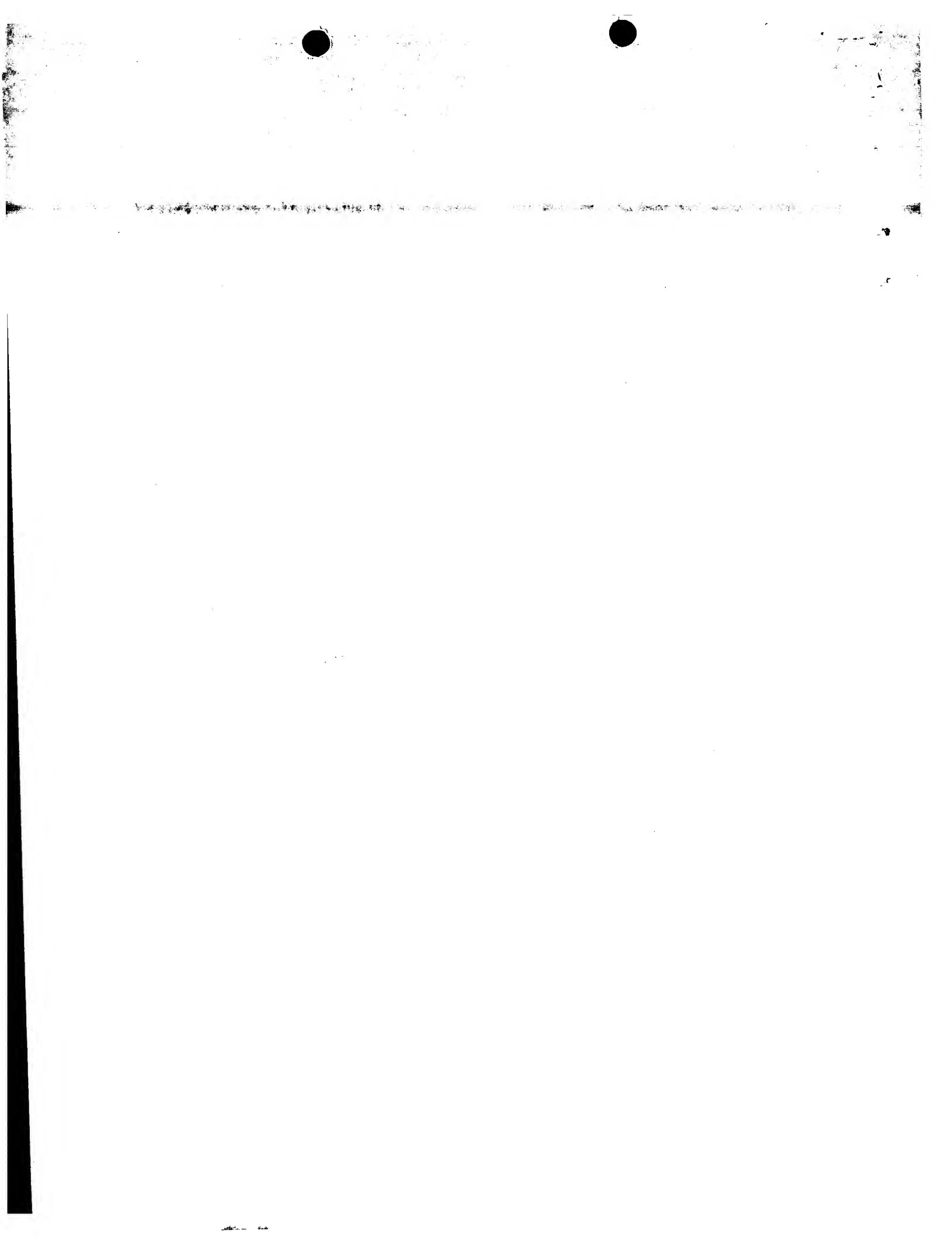
EPO Form 1224 04.85

00901035.6 DMEX

7001007 13/04/02

..... M02

006





P.B.5818 - Patentlaan 2  
2280 HV Rijswijk (ZH)  
☎ +31 70 340 2040  
TX 31651 epo nl  
FAX +31 70 340 3016

Europäisches  
Patentamt

Zweigstelle  
in Den Haag  
Recherchen-  
abteilung

European  
Patent Office

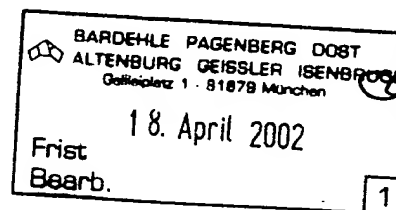
Branch at  
The Hague  
Search  
division

Offic européen  
des brevets

Département à  
La Haye  
Division de la  
recherche

Ricker, Mathias, Dr. Dipl.-Chem.  
Patent- und Rechtsanwälte  
Bardehle - Pagenberg - Dost  
- Altenburg - Geissler - Isenbruck  
Postfach 86 06 20  
81633 München  
ALLEMAGNE

4 Seite(n) gesamt



Datum/Date  
18.04.02

|  |   |
|--|---|
| Zeichen/Ref./Réf.<br><b>C36439PCEP RI/M</b>  | Anmeldung Nr./Application No./Demande n°/Patent Nr./Patent No./Brevet n°.<br><b>00901035.6-2110-CN0000010</b> |
| Anmelder/Applicant/Demandeur/Patentinhaber/Propriétaire/Titulaire<br><b>Shandong Luye Pharmaceutical Co., Ltd.</b> |   |

## COMMUNICATION

The European Patent Office herewith transmits as an enclosure the European search report for the above-mentioned European patent application.

If applicable, copies of the documents cited in the European search report are attached.

☒ Additional set(s) of copies of the documents cited in the European search report is (are) enclosed as well.

## REFUND OF THE SEARCH FEE

If applicable under Article 10 Rules relating to fees, a separate communication from the Receiving Section on the refund of the search fee will be sent later.







| DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT  |  |  |   |
|--|--|--|---|
| Category   | Citation of document with indication, where appropriate, of relevant passages  | Relevant to claim                                | CLASSIFICATION OF THE APPLICATION (Int.Cl.7)                              |
| Y  | <p>YOSHIKAWA M ET AL: "BIOACTIVE SAPONINS AND GLYCOSIDES VII. ON THE HYPOGLYCEMIC PRINCIPLES FROM THE ROOT CORTEX OF ARALIA ETALA SEEM.: STRUCTURE RELATED HYPOGLYCEMIC ACTIVITY OF OLEANOLIC ACID OLIGOGLYCOSIDE"</p> <p>CHEMICAL AND PHARMACEUTICAL BULLETIN, PHARMACEUTICAL SOCIETY OF JAPAN. TOKYO, JP,</p> <p>vol. 44, no. 10, October 1996 (1996-10), pages 1923-1927, XP001061640</p> <p>ISSN: 0009-2363</p> <p>* whole document *</p>  | 1-9  | C07H15/256<br>C07J63/00<br>A61K31/70<br>A61K35/78                         |
| Y  | <p>YOSHIKAWA M ET AL: "MEDICINAL FOODSTUFFS. X. STRUCTURES OF NEW TRITERPENE GLYCOSIDES, GYMNEOSIDES-C, -E, AND -F, FROM THE LEAVES OF GYMNEMA SYLVESTRE R. BR.: INFLUENCE OF GYMNEMA GLYCOSIDES ON GLUCOSE UPTAKE IN RAT SMALL INTESTINAL FRAGMENTS"</p> <p>CHEMICAL AND PHARMACEUTICAL BULLETIN, PHARMACEUTICAL SOCIETY OF JAPAN. TOKYO, JP,</p> <p>vol. 45, no. 12, December 1997 (1997-12), pages 2034-2038, XP001061735</p> <p>ISSN: 0009-2363</p> <p>* page 2035 compd 1 *</p> | 1-9  | <p>TECHNICAL FIELDS SEARCHED (Int.Cl.7)</p> <p>C07H<br/>C07J<br/>A61K</p> |
| The supplementary search report has been based on the last set of claims valid and available at the start of the search.   |  |  |   |
| Place of search<br>MUNICH  |  | Date of completion of the search<br>3 April 2002 | Examiner<br>Klein, D  |
| <p>CATEGORY OF CITED DOCUMENTS</p> <p>X : particularly relevant if taken alone<br/>Y : particularly relevant if combined with another document of the same category<br/>A : technological background<br/>O : non-written disclosure<br/>P : intermediate document</p> <p>T : theory or principle underlying the invention<br/>E : earlier patent document, but published on, or after the filing date<br/>D : document cited in the application<br/>L : document cited for other reasons</p> <p>&amp; : member of the same patent family, corresponding document</p> |  |  |   |

5

EPO FORM 1503 03.82 (P04C04)







| DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT   |   |  |  |
|---|---|--|--|
| Category  | Citation of document with indication, where appropriate, of relevant passages   | Relevant to claim                                | CLASSIFICATION OF THE APPLICATION (Int.Cl.7) |
| Y   | YOSHIKAWA M ET AL: "MEDICINAL FOODSTUFFS VII. ON THE SAPONIN CONSTITUENTS WITH GLUCOSE AND ALCOHOL ABSORPTION-INHIBITORY ACTIVITY FROM A FOOD GARNISH TONBURI, THE FRUIT OF JAPANESE KOCHIA SCOPARIA (L.) SCHRAD.: STRUCTURES OF SCOPARIANOSIDES A, B, AND C"<br>CHEMICAL AND PHARMACEUTICAL BULLETIN, PHARMACEUTICAL SOCIETY OF JAPAN. TOKYO, JP,<br>vol. 45, no. 8, 1997, pages 1300-1305, XP001061675<br>ISSN: 0009-2363<br>* whole document * | 1,4-9  |  |
| Y   | PATENT ABSTRACTS OF JAPAN<br>vol. 1996, no. 06,<br>28 June 1996 (1996-06-28)<br>& JP 08 040912 A (RES INST FOR PROD DEV),<br>13 February 1996 (1996-02-13)<br>* abstract *  | 1-3,8,9  |  |
| A   | MASUDA, HIROYUKI ET AL: "Intraperitoneal administration of Senegae Radix extract and its main component, senegin-II, affects lipid metabolism in normal and hyperlipidemic mice"<br>BIOL. PHARM. BULL. (1996), 19(2), 315-17 ,<br>1996, XP001063179   |  |  |
| P,A   | TAN N ET AL: "Advances in structural elucidation of glucuronide oleanane-type triterpene carboxylic acid 3,28-O-bisdesmosides (1962-1997)"<br>PHYTOCHEMISTRY, PERGAMON PRESS, GB,<br>vol. 52, no. 2, September 1999 (1999-09),<br>pages 153-192, XP004290983<br>ISSN: 0031-9422   |  |  |
| The supplementary search report has been based on the last set of claims valid and available at the start of the search.  |   |  |  |
| Place of search<br>MUNICH   |   | Date of completion of the search<br>3 April 2002 | Examiner<br>Klein, D                         |
| <p>CATEGORY OF CITED DOCUMENTS</p> <p>X : particularly relevant if taken alone<br/>Y : particularly relevant if combined with another document of the same category<br/>A : technological background<br/>O : non-written disclosure<br/>P : intermediate document</p> <p>T : theory or principle underlying the invention<br/>E : earlier patent document, but published on, or after the filing date<br/>D : document cited in the application<br/>L : document cited for other reasons<br/>.....<br/>&amp; : member of the same patent family, corresponding document</p> |   |  |  |

5  
EPO FORM 1503 03.92 (P04C04)



EP 00 90 1035

03-04-2002

| Patent document<br>cited in search report | Publication<br>date | Patent family<br>member(s) | Publication<br>date |
|---|---------------------|----------------------------|---------------------|
| JP 08040912                               | A                   | 13-02-1996                 | NONE                |



# 专利合作条约

## PCT

国际初步审查报告  
(PCT 条约 36 和细则 70)

REC'D 29 DEC 2000

WIPO

PCT

|  |  |                                      |
|--|--|--------------------------------------|
| 申请人或代理人的档案号<br>IEC990019PCT  | 关于后续行为 参见“传送国际初步审查报告的通知”(PCT/IPEA:416 表) |                                      |
| 国际申请号<br>PCT/CN00/00010  | 国际申请日(日/月/年)<br>21.1 月 2000(21.01.00)    | 优先权日(日/月/年)<br>11.2 月 1999(11.02.99) |
| 国际专利分类(IPC)或者国家分类和 IPC 两种分类<br>IPC7: C07H15/256, C07J63/00, A61K31/70, A61K35/78 |  |                                      |
| 申请人<br>山东绿叶制药股份有限公司 等  |  |                                      |

1. 本国际初步审查单位已作出国际初步审查报告并依照条约第 36 条将其传送给申请人。

2. 本报告共计 3 页, 包括扉页。

☐ 本报告还有附件, 即修改后的并且作为本报告基础的说明书修改页、权利要求书修改页和或附图修改页, 和或对本国际初步审查单位所作出的更正页(见 PCT 细则 70.16 和行政规程 607)  
这些附件共计 \_\_\_\_\_ 页

3. 本报告包括关于下列各项的内容:

- I ☒ 报告的基础
- II ☐ 优先权
- III ☐ 不作出关于新颖性、创造性和工业实用性的意见
- IV ☐ 缺乏发明的单一性
- V ☒ 按条约 35(2)关于新颖性、创造性或工业实用性的推断性意见; 支持这种意见的引证和解释
- VI ☐ 引用的某些文件
- VII ☐ 国际申请中的某些缺陷
- VIII ☐ 对国际申请的某些意见

|   |  |
|---|--|
| 提交要求书的日期<br>01.8 月 2000(01.08.00)   | 完成本报告的日期<br>18.12 月 2000(12.18.00)         |
| 国际初步审查单位名称和地址<br>IPEA/CN<br>中国北京市海淀区西土城路 6 号(100088)<br>传真号: 86-10-62019451 | 受权官员<br>刘亚 文 刘 印 亚<br>电话号码: 86-10-62093843 |

PCT/IPEA/409 表(扉页)(1998 年 7 月)



# I. 报告的基础

## 1. 关于国际申请中各个部分：\*

☒ 原始提交的国际申请。

- ☐ 说明书， 第\_\_\_\_\_页，按 原始提交的，  
第\_\_\_\_\_页，随 要求书提交的，  
第\_\_\_\_\_页，随 \_\_\_\_\_ 的信件提交的。
- ☐ 权利要求， 第\_\_\_\_\_页，原 始提交的，  
第\_\_\_\_\_页，按 条约第 19 条修理工改的(附有说明)，  
第\_\_\_\_\_页，随 要求书提交的，  
第\_\_\_\_\_页，随 \_\_\_\_\_ 的信件提交的。
- ☐ 附图， 第\_\_\_\_\_页，原始提交的，  
第\_\_\_\_\_页，随要求书提交的，  
第\_\_\_\_\_页，随 \_\_\_\_\_ 的信件提交的。
- ☐ 说明书中的序列表部分  
第\_\_\_\_\_页，原始要求提交的，  
第\_\_\_\_\_页，随要求书提交的，  
第\_\_\_\_\_页，随 \_\_\_\_\_ 的信件提交的。

2. 关于所使用的语言，除本项下另有说明外，本国际初步审查单位所获得的或者已向本国际初步审查单位提交的上述所有部分，所使用的语言均为提交本国际申请时所使用的语言。

本国际初步审查单位所获得的或向本国际初步审查单位提交的这些部分所使用的语言是 \_\_\_\_\_，  
这种语言是

- ☐ 为了国际检索而提交的译本所使用的语言（细则 23.1（b））。
- ☐ 本国际申请公布时所使用的语言（细则 48.3（b））。
- ☐ 为了国际初步审查而提交的译本所使用的语言（细则 55.2 和/或 55.3）。

3. 关于本国际申请中所公开的任何核武酸和/或氨基酸的序列，本国际初步审查是根据下面的序列表进行的：

- ☐ 国际申请中所包含的书写形式的序列表。
- ☐ 与国际申请同时提交的计算机可读形式的序列表。
- ☐ 后来以书写形式向本国际初步审查单位提交的序列表。
- ☐ 后来以计算机可读的形式向本国际初步审查单位提交的序列表。
- ☐ 已提交了关于后来提交的书写形式的序列表没有超出原始提交的国际申请所公开的范围的说明。
- ☐ 已提交了关于以计算机可读的形式记载的信息是与书写形式的序列表相同的说明。

4. 修改删除了以下内容的：

- ☐ 说明书， 第\_\_\_\_\_页
- ☐ 权利要求， 第\_\_\_\_\_项
- ☐ 附图， 第\_\_\_\_\_页，图 \_\_\_\_\_

5. ☐ 由于（某些）修改被认为超出了原始公开的范围，如补充栏所示，因此本报告是按照如同没有修改的情况作出的(细则 70.2(c))。 \*\*

\* 按照条约第 14 条答复通知时向受理局提交的替换页，在本报告中被称为“原始提交的”，这些替换页不作为本报告的附件，因为它们没有包含修改（细则 70.16 和 70.17）。

\*\* 任何包含这种修改的替换页，都必须在第 1 项中指明，并作为本报告的附件。





## V. 按条约 35 条(2)关于新颖性、创造性或工业实用性的推断性意见：支持这种意见的引证和解释

## 1. 意见

新颖性(N)

权利要求 1 - 13

是

权利要求

否

创造性(IS)

权利要求 1 - 13

是

权利要求

否

工业实用性(IA)

权利要求 1 - 13

是

权利要求

否

## 2. 引证和解释 (细则 70.7)

关于新颖性：

在国际检索报告中引证的对比文献未公开本发明式 I 或式 II 匙羹藤衍生物、其制备方法及其应用。因此，权利要求 1 - 13 符合 PCT 条约第 33(2)所规定的新颖性。

关于创造性：

权利要求 1 - 13 要求保护的式 I 或式 II 匙羹藤衍生物及其应用与现有技术中公开的匙羹藤衍生物在降低血糖及降低血脂方面更有效。因此，权利要求 1 - 13 符合 PCT 条约第 33(3)条所规定的创造性。

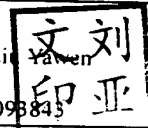


# PATENT COOPERATION TREATY

# PCT

## INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

|   |  |   |
|---|--|---|
| Applicant's or agent's file reference<br>IEC990019PCT   | <b>FOR FURTHER ACTION</b> See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)  |   |
| International application No.<br>PCT/CN00/00010   | International filing date (day/month/year)<br>21.Jan.2000(21.01.00)  | Priority date (day/month/year)<br>11.Feb.1999(11.02.99) |
| International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC<br>IPC7:C07H15/256, C07J63/00, A61K31/70, A61K35/78  |  |   |
| Applicant<br>SHANDONG LUYE PHARMACEUTICAL CO., Ltd et. al   |  |   |
| 1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.<br>2. This REPORT consists of a total of <u>3</u> sheets, including this cover sheet.<br><input type="checkbox"/> This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).<br>These annexes consist of a total of _____ sheets.  |  |   |
| 3. This report contains indications relating to the following items:<br>I <input checked="" type="checkbox"/> Basis of the report<br>II <input type="checkbox"/> priority<br>III <input type="checkbox"/> Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability<br>IV <input type="checkbox"/> Lack of unity of invention<br>V <input checked="" type="checkbox"/> Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement<br>VI <input type="checkbox"/> Certain documents cited<br>VII <input type="checkbox"/> Certain defects in the international application<br>VIII <input type="checkbox"/> Certain observations on the international application. |  |   |
| Date of submission of the demand<br>01.Aug.2000(01.08.00)   | Date of completion of this report<br>18.Dec.2000(12.18.00)   |   |
| Name and mailing address of the IPEA/CN<br>6 Xitucheng Rd., Jimen Bridge, Haidian District,<br>100088 Beijing, China<br>Facsimile No. 86-10-62019451  | Authorized officer<br><div style="text-align: right;"> <br/>                     Li Yawen                 </div> Telephone No. 86-10-62098845 |   |



## I. Basis of the report

## 1. With regard to the elements of the international application:

☒ the international application as originally filed☐ the description:

pages \_\_\_\_\_

.as originally filed

pages \_\_\_\_\_

.filed with the demand

pages \_\_\_\_\_

.filed with the letter of \_\_\_\_\_

☐ the claims:

Nos \_\_\_\_\_

.as originally file

Nos \_\_\_\_\_

.as amended (together with any statement) under Article 19

Nos \_\_\_\_\_

.filed with the demand

Nos \_\_\_\_\_

.filed with the letter of \_\_\_\_\_

☐ the drawings:

sheets/fig \_\_\_\_\_

.as originally filed

sheets/fig \_\_\_\_\_

.filed with the demand

sheets/fig \_\_\_\_\_

.filed with the letter of \_\_\_\_\_

☐ the sequence listing part of the description:

pages \_\_\_\_\_

.as originally filed

pages \_\_\_\_\_

.filed with the demand

pages \_\_\_\_\_

.filed with the letter of \_\_\_\_\_

## 2. with regard to the language all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item.

These elements were available or furnished to this Authority in the following language \_\_\_\_\_ which is:

- ☐ the language of a translation furnished for the purposes of international search (under Rule 23.1(b)).
- ☐ the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)).
- ☐ the language of the translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rules 55.2 and/or 55.3).

## 3. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

- ☐ contained in the international application in written form.
- ☐ filed together with the international application in computer readable form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in written form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.
- ☐ The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.
- ☐ The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

4. ☐ The amendments have resulted in the cancellation of:☐ the description, pages \_\_\_\_\_☐ the claims No. \_\_\_\_\_☐ the drawings, sheets/fig \_\_\_\_\_5. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).\*\*

\* Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report since they do not contain amendments (Rules 70.16 and 70.17).

\*\* Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item I and annexed to this report.



# INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.  
PCT/CN00/00010

## V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability: citations and explanations supporting such statement

### 1. Statement:

Novelty (N)

Claims 1 - 13

YES

Claims

NO

Inventive step (IS)

Claims 1 - 13

YES

Claims

NO

Industrial applicability (IA)

Claims 1 - 13

YES

Claims

NO

### 2. Citations and explanations (Rule 70.7)

#### Concerning novelty:

The documents cited in the international search report did not disclose gymnemic acid derivatives represented by formula I or II, their preparation and their use of the present invention. Therefore, claims 1-13 meet the requirements for novelty of PCT Article 33(2).

#### Concerning inventive step:

Gymnemic acid derivatives represented by formula I or II and their use claimed in the claims 1-13 much more effective in lowering blood sugar and blood lipid than that of gymnemic acid derivatives disclosed in prior art. therefore, claims 1-13 meet the requirements for inventive step of PCT Article 33(3).





PCT

世界知识产权组织  
国际局



按照专利合作条约(PCT)所公布的国际申请

|   |  |  |                                       |
|---|--|--|---------------------------------------|
| (51) 国际专利分类号:<br>C07H 15/256, C07J 63/00, A61K 31/70, 35/78   |  | A1   | (11) 国际公布号:<br>WO00/47594             |
|   |  |  | (43) 国际公布日:<br>2000年8月17日(17.08.2000) |
| (21) 国际申请号:<br>PCT/CN00/00010   |  | (74) 代理人: 中国国际贸易促进委员会专利商标事务所<br>(CCPIT PATENT AND TRADEMARK LAW OFFICE); 中国北京市阜成门外大街2号8层, Beijing 100037 (CN)。   |                                       |
| (22) 国际申请日:<br>2000年1月21日(21.01.2000)   |  | (81) 指定国:<br>AE, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW, ARIPO专利(GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), 欧亚专利(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 欧洲专利(AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI专利(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG) |                                       |
| (30) 优先权:<br>99100721.2 1999年2月11日(11.02.1999) CN<br>99100722.0 1999年2月11日(11.02.1999) CN<br>99102823.6 1999年3月12日(12.03.1999) CN<br>99103588.7 1999年4月5日(05.04.1999) CN  |  |  |                                       |
| (71) 申请人(对除美国以外的所有指定国): 山东绿叶制药有限公司(SHANDONG LUYE PHARMACEUTICAL CO., LTD.)[CN/CN]; 中国山东省烟台市莱山区宝源路9号, Shandong 264003 (CN)。  |  |  |                                       |
| (72) 发明人;及  |  |  |                                       |
| (75) 发明人/申请人(仅对美国): 叶文才(YE, Wencai) [CN/CN]; 中国江苏省南京市神农路1号中国药科大学植化室, Jiangsu 210038 (CN)。戴岳(DAI, Yue) [CN/CN]; 中国江苏省南京市神农路1号中国药科大学药理室, Jiangsu 210038 (CN)。丛晓东(CONG, Xiaodong) [CN/CN]; 中国江苏省南京市马家街40号5幢4单元202号, Jiangsu 210009 (CN)。朱兴祥(ZHU, Xingxiang) [CN/CN]; 中国江苏省南京市马家街40号5幢4单元201号, Jiangsu 210009 (CN)。赵守训(ZHAO, Shouxun)[CN/CN]; 中国江苏省南京市马家街和平新村, Jiangsu 210009 (CN)。 |  | 本国际公布:<br>包括国际检索报告。  |                                       |
| (54) Title: NOVEL GYMNMIC ACID DERIVATIVES, PROCESS FOR THE PREPARATION THEREOF AND USE THEREOF AS MEDICINE   |  |  |                                       |
| (54) 发明名称: 新的匙羹藤酸衍生物, 其制备方法, 含它们的药物组合物及它们的医药用处  |  |  |                                       |
| (57) Abstract   |  |  |                                       |
| This invention relates to novel gymnmic acid derivatives represented by formula (I) and (II), pharmaceutical compositions containing them and their use as medicine.  |  |  |                                       |

## (57) 摘要

本发明涉及新的式 I 或式 II 匙羹藤酸衍生物, 含它们的药物组合  
物及它们的医药用途。

## 以下内容仅供参考

在按照PCT所公布的国际申请小册子首页上所采用的PCT成员国国家代码如下:

|               |          |                |             |
|---------------|----------|----------------|-------------|
| AE 阿拉伯联合酋长国   | DE 德国    | KG 吉尔吉斯斯坦      | PL 波兰       |
| AG 安提瓜和巴布亚    | DK 丹麦    | KP 朝鲜民主主义人民共和国 | PT 葡萄牙      |
| AL 阿尔巴尼亚      | DM 多米尼加  | KR 韩国          | RO 罗马尼亚     |
| AM 亚美尼亚       | DZ 阿尔及利亚 | KZ 哈萨克斯坦       | RU 俄罗斯联邦    |
| AT 奥地利        | EE 爱沙尼亚  | LC 圣卢西亚        | SD 苏丹       |
| AU 澳大利亚       | ES 西班牙   | LI 列支敦士登       | SE 瑞典       |
| AZ 阿塞拜疆       | FI 芬兰    | LK 斯里兰卡        | SG 新加坡      |
| BA 波斯尼亚-黑塞哥维那 | FR 法国    | LR 利比里亚        | SI 斯洛文尼亚    |
| BB 巴巴多斯       | GA 加蓬    | LS 莱索托         | SK 斯洛伐克     |
| BE 比利时        | GB 英国    | LT 立陶宛         | SL 塞拉利昂     |
| BF 布基纳法索      | GD 格拉纳达  | LU 卢森堡         | SN 塞内加尔     |
| BG 保加利亚       | GE 格鲁吉亚  | LV 拉托维亚        | SZ 斯威士兰     |
| BJ 贝宁         | GH 加纳    | MA 摩洛哥         | TD 乍得       |
| BR 巴西         | GM 冈比亚   | MC 摩纳哥         | TG 多哥       |
| BY 白俄罗斯       | GN 几内亚   | MD 摩尔多瓦共和国     | TJ 塔吉克斯坦    |
| BZ 伯利兹        | GR 希腊    | MG 马达加斯加       | TM 土库曼斯坦    |
| CA 加拿大        | GW 几内亚比绍 | MK 前南斯拉夫马其顿共和国 | TR 土耳其      |
| CF 中非共和国      | HR 克罗地亚  | ML 马里          | TT 特立尼达和多巴哥 |
| CG 刚果         | HU 匈牙利   | MN 蒙古          | TZ 坦桑尼亚     |
| CH 瑞士         | ID 印度尼西亚 | MR 毛里塔尼亚       | UA 乌克兰      |
| CI 科特迪瓦       | IE 爱尔兰   | MW 马拉维         | UG 乌干达      |
| CM 喀麦隆        | IL 以色列   | MX 墨西哥         | US 美国       |
| CN 中国         | IN 印度    | MZ 莫桑比克        | UZ 乌兹别克斯坦   |
| CR 哥斯达黎加      | IS 冰岛    | NE 尼日尔         | VN 越南       |
| CU 古巴         | IT 意大利   | NL 荷兰          | YU 南斯拉夫     |
| CY 塞浦路斯       | JP 日本    | NO 挪威          | ZA 南非       |
| CZ 捷克共和国      | KE 肯尼亚   | NZ 新西兰         | ZW 津巴布韦     |

# 新的匙羹藤酸衍生物，其制备方法， 含它们的药物组合物及它们的医药用途

## 发明领域

本发明涉及新的匙羹藤酸 (Gymnemic acid) 衍生物，其制备方法，含它们的药物组合物或提取物，及它们的医药用途，尤其是在预防或治疗与高血糖，高血脂及血小板凝集有关疾病或症状的用途。

## 背景技术

有关匙羹藤酸衍生物的研究在本领域已做了大量工作，且这些匙羹藤酸衍生物皆来自植物匙羹藤。植物匙羹藤为萝藦科植物 *Gymnema sylvestre* R. Br.，其在印度民间被用来抗肿毒、蛇伤、解疟、利尿和降血糖等。但到目前为止，本发明的匙羹藤酸衍生物及其生物活性尚未见报道。

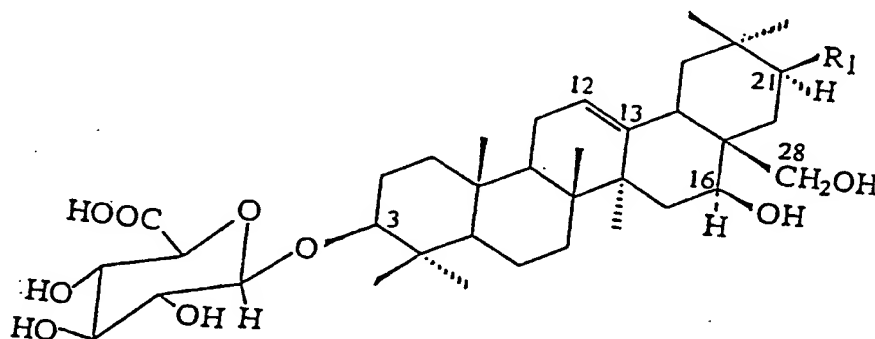
## 发明目的

本发明目的在于寻找新的匙羹藤酸衍生物，并进而开发其医药用途。

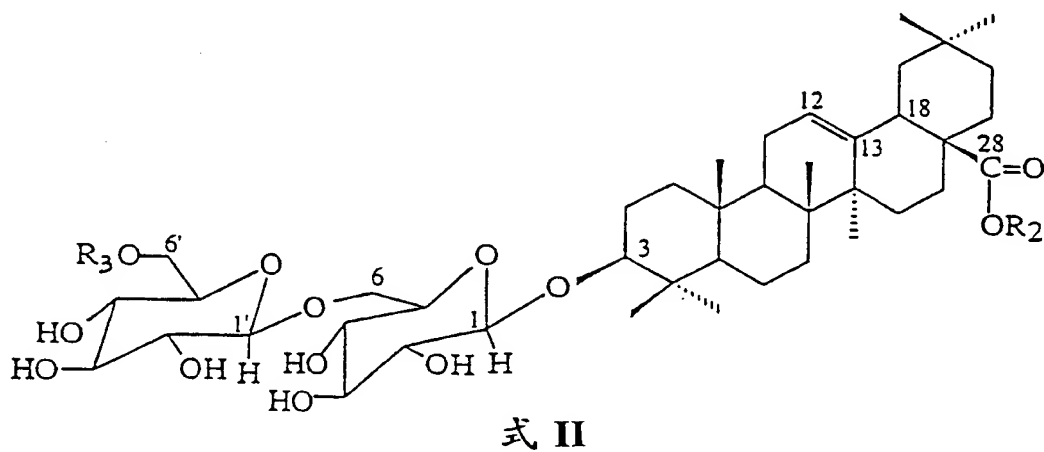
## 发明简述

本发明人现已发现新的式 I 或式 II 的匙羹藤酸衍生物及其医药用途，尤其是在降血糖，降血脂及抗血小板凝集等方面的用途。本发明基于以上发现得已完成。

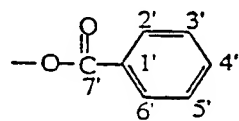
本发明第一方面涉及式 I 或式 II 的匙羹藤酸衍生物或其药用碱加成盐，



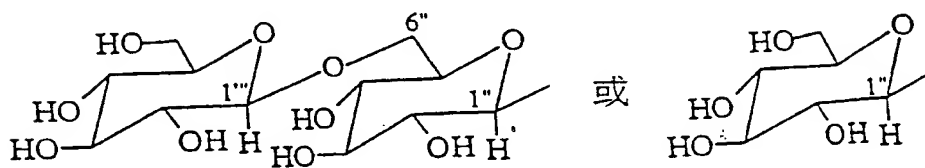
式 I



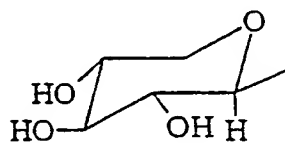
其中  $R_1=H$  或下式代表的基团



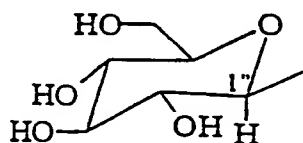
$R_3$  为氢原子,  $R_2$  为下式代表的基团, 或



$R_3$  为下式代表的基团,



$R_2$  为氢原子或下式代表的基团,



本发明另一方面涉及药物组合物, 其包括作为活性成分的至少一种式 I 或 II 题羹藤酸衍生物或其药用碱加成盐或式 I 和式 II 题羹藤酸衍生物或其药用碱加成盐, 及药用载体或赋形剂。

本发明另一方面涉及题羹藤提取物, 其特征在于, 该提取物含有 12.5 - 40 重量% 的式 I 和式 II 的题羹藤酸衍生物。

本发明再一方面涉及用于预防或治疗与高血糖, 高血脂或血小板凝集有关疾病或症状的药物组合物, 其包括作为活性成分的至少一种式 I 或式 II 题羹藤酸衍生物或其药用碱加成盐或式 I 和 II 题羹藤酸衍生物或其药用碱加成盐, 及药用载体或赋形剂。

本发明再一方面涉及用于预防或治疗糖尿病的药物组合物, 其包括作为活性成分的至少一种式 I 或式 II 题羹藤酸衍生物或其药用碱加成盐或式 I 和式 II 题羹藤酸衍生物或其药用碱加成盐, 及药用载体或赋形剂。

本发明再一方面涉及用于治疗或预防降血脂的药物组合物, 其包括作为活性成分的至少一种式 I 或式 II 题羹藤酸衍生物或其药用碱加成盐或式 I 和式 II 题羹藤酸衍生物或其药用碱加成盐, 及药用载体或赋形剂。

本发明再一方面涉及用于治疗或预防抗血小板凝聚的药物组合物, 其包括作为活性成分的至少一种式 I 或式 II 题羹藤酸衍生物或其药用碱加成盐或式 I 和式 II 题羹藤酸衍生物或其药用碱加成盐, 及药用载体或赋形剂。

本发明再一方面涉及制备式 I 和式 II 题羹藤酸衍生物或其药用碱加成盐的方法, 其包括下列步骤:

a) 用乙醇回流提取选自题羹藤的植物。浓缩;

b) 用环己烷提取 a) 中浓缩液, 再用正丁醇提取, 减压浓缩至干, 得浸膏;

c) 将 b) 中浸膏在硅胶柱层析上洗脱, 洗脱剂为氯仿: 甲醇=90:10 - 50:50 或 90:10 - 60:40, 得式 I 匙羹藤酸衍生物及剩余物。

d) 将步骤 (c) 得到的剩余物进行  $C_{18}$  柱层析, 洗脱剂为甲醇/水 (20:80 - 40:60), 得式 II 匙羹藤酸衍生物;

e) 如必要, 将所得式 I 或式 II 匙羹藤酸衍生物用无机碱或有机碱转化成其药用碱加成盐。

本发明再一方面涉及制备含 12.5 - 40 重量% 的式 I 和式 II 匙羹藤酸衍生物的匙羹藤提取物, 其包括: a) 用 60 - 95% 乙醇提取匙羹藤叶, 然后浓缩;

b) 用环己烷提取 a) 中所得浓缩液, 然后用正丁醇提取, 减压浓缩正丁醇提取液。

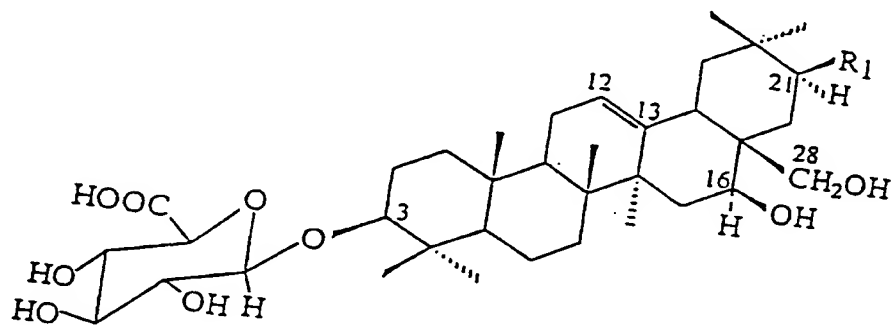
本发明再一方面涉及式 I 或式 II 匙羹藤酸衍生物或含式 I 和式 II 匙羹藤酸衍生物的提取物在制备用于预防或治疗与高血糖、高血脂或血小板凝集有关疾病或症状的药物中的用途。

本发明再一方面涉及预防或治疗与高血糖、高血脂或血小板凝集有关疾病或症状的方法, 其包括将预防或治疗有效量的式 I 或式 II 匙羹藤酸衍生物或其药用碱加成盐或式 I 和式 II 匙羹藤酸衍生物或其药用碱加成盐给予患与高血糖, 高血脂或血小板凝集有关疾病或症状的患者。

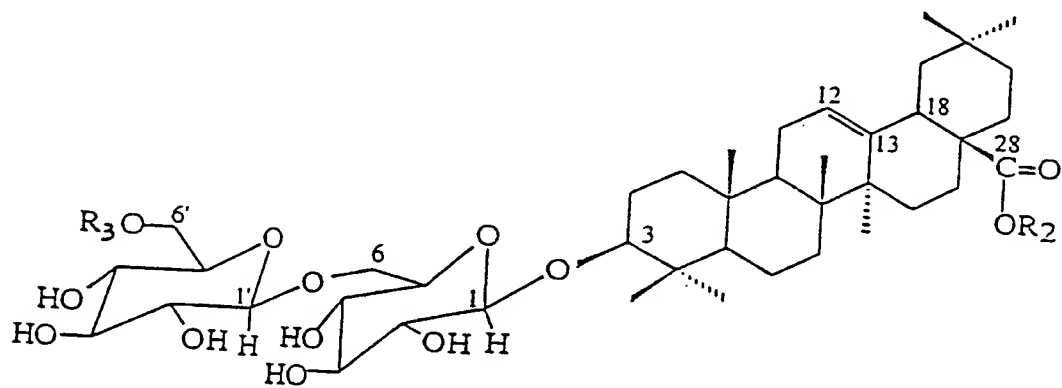
本发明中所用术语“患者”意指包括人的哺乳动物, 尤其指人类。

#### 详细描述

本发明涉及式 I 或式 II 匙羹藤酸衍生物或其药用碱加成盐,

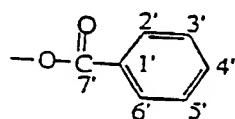


式 I

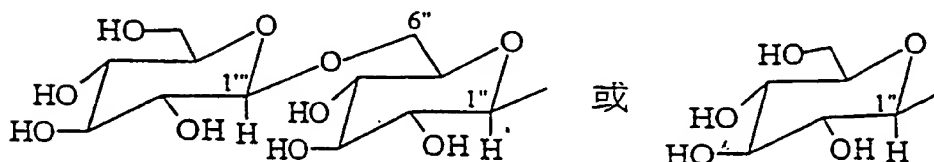


式 II

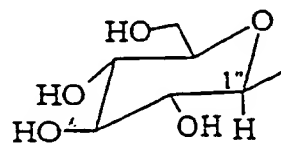
其中  $R_1 = H$  或下式代表的基团



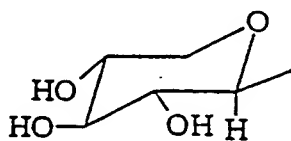
$R_3$  为氢原子,  $R_2$  为下式代表的基团, 或



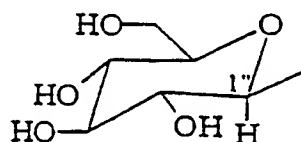
或



$R_3$  为下式代表的基团,



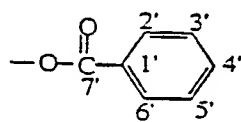
$R_2$  为氢原子或下式代表的基团,



根据本发明, 式 I 或式 II 是羧藤酸衍生物的药用碱加成盐包括与药用无机碱或有机碱所成的盐, 无机碱举例讲有碱金属或碱土金属氢氧化物, 碱金属或碱土金属碳酸盐或碳酸氢盐, 碱金属可选自锂、钠、钾, 碱土金属可选自钡、镁、钙等, 有机碱举例讲有三乙胺等。

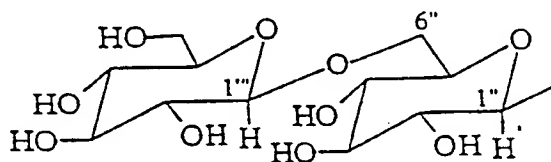
根据本发明, 优选  $R_1$  为氢原子的式 I 是羧藤酸化合物。

根据本发明, 优选  $R_1$  为下式基团的式 I 是羧藤酸



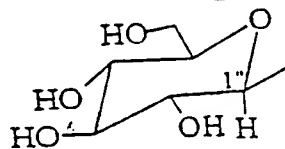
化合物。

根据本发明, 优选  $R_3$  为氢原子,  $R_2$  为下式基团



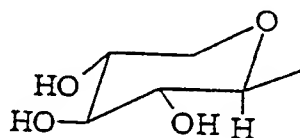
的式 II 是羧藤酸化合物。

根据本发明, 优选  $R_3$  为氢原子,  $R_2$  为下式基团



的式 II 是羧藤酸化合物。

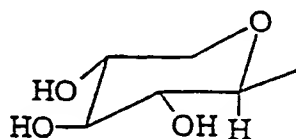
根据本发明, 优选  $R_3$  为下式基团,  $R_2$  为氢原子



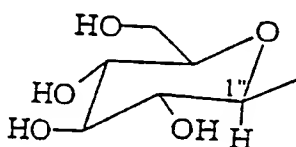


的式 II 是萘藤酸化合物。

根据本发明，优选  $R_3$  为下式基团，



$R_2$  为下式基团



的式 II 是萘藤酸化合物。

根据本发明，本发明的药物组合物包括预防或治疗有效量的至少一种式 I 或式 II 是萘藤酸衍生物或其药用碱加成盐或式 I 和式 II 的萘藤酸衍生物或其药用碱加成盐，及药用载体或赋形剂。举例讲，本发明药物组合物可包括，按重量计，1.25 - 2.10% 化合物 A，0.89 - 1.50% 化合物 B，2.40 - 3.80% 化合物 C，2.10 - 3.40% 化合物 D，2.74 - 4.60% 化合物 E 和 3.24 - 5.40% 化合物 F。（化合物 A，B，C，D，E，F 见后面实施例中描述）。该药物组合物可通过肠道，非肠道或局部给药途径给药，如口服，肌肉，皮下，腹膜，静脉等。肠道给药的剂型举例有：片剂、胶囊、溶液、悬浮液、粉剂、粒剂等。非肠道给药的剂型举例有：注射液、冻干粉针剂等。局部给药的剂型举例有霜剂、软膏、糊剂、贴片及喷雾剂等。在上述给药途径中，优选口服给药，口服给药剂型优选胶囊。本发明药物组合物中所用的药用载体或赋形剂举例讲包括粘合剂，填充剂、润湿剂、崩解剂、表面活性剂、润湿剂、稀释剂等，如需要，还可使用着色剂，调味剂，助溶剂，缓冲剂等。本发明药物组合物中使用的稀释剂举例有淀粉、糊精、乳糖、微晶纤维素、微粉硅胶等，优选微粉硅胶，润湿剂举例有水和乙醇，润

滑剂举例有滑石粉，硬脂酸镁等。

根据本发明，本发明的药物组合物可按本领域已知方法制备，如将本发明式 I 或式 II 匙羹藤酸衍生物或其药用碱加成盐或式 I 和式 II 匙羹藤酸衍生物或其药用碱加成盐与药用载体或赋形剂混合。

本发明式 I 或式 II 匙羹藤酸衍生物的具体给药剂量取决于许多因素，如所要预防或治疗疾病的性质和严重程度，患者的性别，年龄，体重及个体反应，所用的具体化合物，给药途径及给药次数等，这些可由临床医生视具体情况决定。通常本发明式 I 或式 II 匙羹藤酸衍生物的剂量可以单一剂量形式，每天分 1-4 次给药。

根据本发明，本发明式 I 匙羹藤酸衍生物或其药用碱加成盐可如下制备得到：

a) 匙羹藤干叶，粉碎，用 60-95% 的乙醇回流提取 3 次，每次 2 小时，合并提取液，减压回收至无醇味，得到浓缩液，备用；

b) 把所得到的浓缩液用环己烷萃取 3-6 次，然后再用正丁醇萃取，把正丁醇部分减压回收至干浸膏，备用；

c) 将步骤 b) 得到的干浸膏用硅胶柱层析分离，以氯仿-甲醇比例为 90:10-60:40 或 90:10-50:50 的混合液洗脱，得式 I 匙羹藤酸衍生物；

d) 如需要，将 c) 中所得式 I 匙羹藤酸衍生物转变成其药用碱加成盐。

根据本发明，本发明式 II 匙羹藤酸衍生物或其药用碱加成盐可如下制备得到。

a) 匙羹藤干叶，粉碎，用 60-95% 的乙醇回流提取 3 次，每次 2 小时，合并提取液，减压回收至无醇味，得到浓缩液，备用；

b) 把所得到的浓缩液用环己烷萃取 3-6 次，然后再用正丁醇萃取，把正丁醇部分减压回收至干浸膏，备用；

c) 将步骤 b) 得到的干浸膏拌入粗硅胶，处理后待上柱；使用硅胶 H 的薄层层析分离，用氯仿-甲醇比例为 90:10-50:50 或 90:10-60:40 的混合液为洗脱剂，然后，将氯仿-甲醇洗脱后的剩余物进行 C<sub>18</sub>

柱层析, 洗脱剂为甲醇/水 (20:80 - 40:60), 得式 II 匙羹藤酸衍生物;

d) 如需要, 将 c) 中所得式 II 匙羹藤酸衍生物按本领域已知方法转变为药用碱加成盐。

根据本发明, 本发明含 12.5 - 40 重量% 式 I 和式 II 匙羹藤酸衍生物的提取物可如下制备得到: 将匙羹藤叶粗粉用 60 - 95% 的乙醇回流提取 1 - 4 次, 每次提取溶剂用量为 6ml/g, 提取时间 1 - 3 小时, 合并乙醇提取液, 加压回收至无醇味, 用环己烷萃取所得到的浓缩液 1 - 3 次, 每次使用溶剂量为 500ml, 然后再用 500ml 的正丁醇萃取 1 - 3 次, 合并正丁醇萃取液, 减压回收, 得到所要提取物。

本发明将通过下面的制备实施例及生物活性试验进行进一步详细说明, 但这些实施例或试验不意味着本发明仅限于此。

#### 实施例 1

化合物 A ( $R_1$  为氢原子的式 I 匙羹藤酸衍生物) 和化合物 B ( $R_1$  为下式基团

) 的式 I 匙羹藤酸衍生物的制备。

匙羹藤叶粗粉 1000g, 用 60% 的乙醇回流提取三次, 每次体积为 6.0 升, 时间各 2 小时, 合并乙醇提取液, 把该乙醇提取液减压回收至无醇味, 把浓缩液用 0.5L 的环己烷丁醇萃取三次, 合并正丁醇萃取液, 减压回收, 得到干浸膏状物 64.0g。取 32.0g 干浸膏状物, 拌入 60 - 100 目的粗硅胶 60g, 水浴锅上蒸发至干, 待上样。用 450g 200 - 300 目的硅胶, 湿法装柱, 然后加入处理好的样品, 进行柱层析, 用 90:10 - 60:40 的氯仿 - 甲醇混合液洗脱, 得到化合物 A80mg 和化合物 B60mg。

化合物 A 和化合物 B 的理化数据如下所示:

化合物 A:

无定形粉末; mp198 - 202℃;  $[\alpha]_{20}^D +16.0^\circ$  (c0.10, MeOH); IR $v_{\max}$  3414 (OH), 1724 (COOH), 1636 (C=C), 1458, 1380,

1054 $\text{cm}^{-1}$ ;  $^1\text{H}$ NMR (500MHz, 吡啶- $\text{d}_5$ )  $\delta$ 0.86 (3H, s, Me), 0.95 (3H, s, Me), 1.01 (9H, s, Me), 1.32 (3H, s, Me), 1.39 (3H, s, Me), 3.39 (1H, dd,  $J=4.3$  和 11.8Hz, H-3 $\alpha$ ), 3.68 (1H, d,  $J=10.5\text{Hz}$ , H-28a), 4.43 (1H, dd,  $J=10.5\text{Hz}$ , H-28b), 4.68 (1H, m, H-16 $\alpha$ ), 5.04 (1H, dd,  $J=7.8\text{Hz}$ , 葡萄糖酸的 H-1), 5.26 (1H, br s, H-12);  $^{13}\text{C}$ NMR (125MHz, 吡啶- $\text{d}_5$ ), 见表 1 和 2; FAB MS $m/z$  657 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ .

化合物 B:

无定形粉末; mp192-195 $^{\circ}\text{C}$ ;  $[\alpha]_{20}^{\text{D}}+27.2^{\circ}$  (c 0.15, MeOH); IR $\nu_{\text{max}}$ 3444 (OH), 1724, 1700, 1635 (C=C), 1457, 1388, 1280, 1074, 720 $\text{cm}^{-1}$ ;  $^1\text{H}$ NMR (500MHz, 吡啶- $\text{d}_5$ )  $\delta$ 0.98 (3H, s, Me), 1.01 (3H, s, Me), 1.02 (9H, s, Me), 1.07 (3H, s, Me), 1.30 (3H, s, Me), 1.34 (3H, s, Me), 1.36 (3H, s, Me), 3.40 (1H, dd,  $J=4.5$  和 12.0Hz, H-3 $\alpha$ ), 3.70 (1H, dd,  $J=10.2\text{Hz}$ , H-28a), 4.42 (1H, dd,  $J=10.2\text{Hz}$ , H-28b), 4.70 (1H, m, H-16 $\alpha$ ), 5.10 (1H, dd,  $J=7.8\text{Hz}$ , 葡萄糖酸的 H-1), 5.70 (1H, dd,  $J=4.7$  和 12.3Hz, H-21 $\alpha$ ), 7.47 (3H, 重叠, H-3', -4'和-5'), 8.25 (2H, dd,  $J=1.4$  和 4.8Hz, H-2'和-6');  $^{13}\text{C}$ NMR (125MHz, 吡啶- $\text{d}_5$ ), 见表 1 和 2; FAB MS $m/z$  777 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ .

表 1: 化合物 A 和 B 的糖甙配基部分的  $^{13}\text{C}$ NMR 的数据

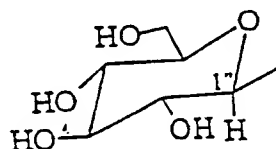
| 碳原子     | 化合物 A | 化合物 B |
|---------|-------|-------|
| 1       | 38.8  | 38.8  |
| 2       | 26.6  | 26.6  |
| 3       | 89.0  | 89.0  |
| 4       | 39.5  | 39.6  |
| 5       | 55.7  | 55.7  |
| 6       | 18.4  | 18.4  |
| 7       | 32.9  | 33.0  |
| 8       | 40.1  | 40.1  |
| 9       | 47.1  | 47.1  |
| 10      | 36.7  | 36.7  |
| 11      | 23.8  | 23.9  |
| 12      | 122.6 | 123.1 |
| 13      | 143.9 | 142.6 |
| 14      | 43.8  | 43.7  |
| 15      | 36.7  | 36.8  |
| 16      | 66.6  | 66.4  |
| 17      | 41.1  | 43.8  |
| 18      | 44.4  | 44.2  |
| 19      | 47.1  | 47.2  |
| 20      | 31.1  | 36.0  |
| 21      | 34.3  | 75.6  |
| 22      | 26.2  | 33.3  |
| 23      | 28.2  | 28.2  |
| 24      | 16.9  | 16.9  |
| 25      | 15.7  | 15.7  |
| 26      | 17.0  | 17.0  |
| 27      | 27.2  | 27.0  |
| 28      | 68.9  | 66.8  |
| 29      | 33.4  | 29.2  |
| 30      | 24.1  | 18.8  |
| 酰基部分 1' |       | 131.6 |
| 酰基部分 2' |       | 129.9 |
| 酰基部分 3' |       | 128.9 |
| 酰基部分 4' |       | 133.2 |
| 酰基部分 5' |       | 128.9 |
| 酰基部分 6' |       | 129.9 |
| 酰基部分 7' |       | 166.3 |

表 2 化合物 A 和 B 的糖部分的  $^{13}\text{C}$ NMR 的数据

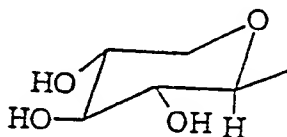
| C-3 的碳原子 | 化合物 A | 化合物 B |
|----------|-------|-------|
| 谷氨酸 1    | 107.3 | 107.3 |
| 谷氨酸 2    | 75.6  | 75.6  |
| 谷氨酸 3    | 78.2  | 78.2  |
| 谷氨酸 4    | 73.5  | 73.6  |
| 谷氨酸 5    | 77.8  | 77.7  |
| 谷氨酸 6    | 173.1 | 173.3 |

## 实施例 2

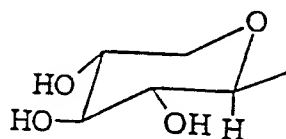
化合物 C ( $\text{R}_3$  为氢原子,  $\text{R}_2$  为下式基团



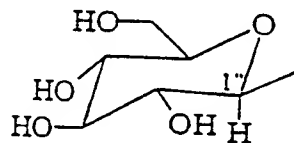
的式 II 是羧酸衍生物), 化合物 D ( $\text{R}_3$  为下式基团



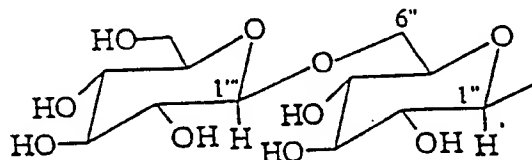
$\text{R}_2$  为氢原子的式 II 是羧酸衍生物), 化合物 E ( $\text{R}_3$  为下式基团



$\text{R}_2$  为下式基团



的式 II 是羧酸衍生物) 和化合物 F ( $\text{R}_3$  为氢原子,  $\text{R}_2$  为下式基团



的式 II 是羧酸衍生物) 的制备

匙羹藤叶粗粉 1000g, 用 75% 的乙醇回流提取三次, 每次体积为 6.0L, 时间各 2 小时, 合并乙醇提取液, 把该乙醇提取液减压回收至无醇味, 把浓缩液用 0.5L 的环己烷丁醇萃取 3 次, 合并正丁醇萃取液, 减压回收, 得到干浸膏状物 72.0g。取 36.0g 干浸膏状物, 拌入 60-100 目的粗硅胶 60g, 用水浴蒸发至干, 待上样。用 450g 薄层层析用的 200-400 目的硅胶 H, 湿法装柱, 样品上样后, 用 90:10-60:40 的氯仿-甲醇混合液进行加压柱层析, 将上述柱层析后得到的剩余物进行  $C_{18}$  柱层析, 洗脱剂为甲醇/水 (20:80-40:60), 分别得到化合物 C (130mg)、化合物 D (115mg)、化合物 E (160mg) 和化合物 F (195mg)。

化合物 C 的理化数据如下所示:

无定形粉末; mp206-209℃;  $[\alpha]_{20}^D - 6.5^\circ$  (c 0.11, MeOH); IR $v_{\max}$  3424 (OH), 1735 (COOR), 1636 (C=C), 1457, 1034 $cm^{-1}$ ;  $^1H$ NMR (400MHz, 吡啶- $d_5$ )  $\delta$ 0.82 (3H, s, Me), 0.87 (3H, s, Me), 0.91 (3H, s, Me), 0.97 (3H, s, Me), 1.07 (3H, s, Me), 1.20 (3H, s, Me), 1.23 (3H, s, Me), 3.17 (1H, dd, J=3.5 和 10.2Hz, H-18), 3.30 (1H, dd, J=3.9 和 11.7Hz, H-3 $\alpha$ ), 5.37 (1H, br s, H-12),  $^{13}C$ NMR (100MHz, 吡啶- $d_5$ ), 见表 3 和 4; FAB MS $m/z$  943 $[M+H]^+$ 。

化合物 D 的理化数据如下所示:

无定形粉末; mp202-204℃;  $[\alpha]_{20}^D - 3.2^\circ$  (c 0.15, MeOH); IR $v_{\max}$  3410 (OH), 1710 (COOR), 1638 (C=C), 1458, 1036 $cm^{-1}$ ;  $^1H$ NMR (400MHz, 吡啶- $d_5$ )  $\delta$ 0.87 (3H, s, Me), 0.91 (3H, s, Me), 0.96 (3H, s, Me), 1.02 (3H, s, Me), 1.10 (3H, s, Me), 1.24 (3H, s, Me), 1.29 (3H, s, Me), 3.30 (1H, dd, J=4.5 和 11.5Hz, H-3 $\alpha$ ), 5.38 (1H, br s, H-12),  $^{13}C$ NMR (100MHz, 吡啶- $d_5$ ), 见表 3 和 4; FAB MS $m/z$  935 $[M+Na]^+$ 。

化合物 E 的理化数据如下所示:

无定形粉末; mp212-215℃;  $[\alpha]_{20}^D - 9.6^\circ$  (c 0.20, MeOH); IR $v_{\max}$  3414 (OH), 1740 (COOR), 1636 (C=C), 1460, 1364,

1044,  $896\text{cm}^{-1}$ ;  $^1\text{HNMR}$  (500MHz, 吡啶- $\text{d}_5$ )  $\delta$ 0.85 (3H, s, Me), 0.90 (3H, s, Me), 0.94 (3H, s, Me), 1.00 (3H, s, Me), 1.09 (3H, s, Me), 1.23 (3H, s, Me), 1.27 (3H, s, Me), 3.19 (1H, dd,  $J=4.0$  和  $13.7\text{Hz}$ , H-18), 3.32 (1H, dd,  $J=4.4$  和  $11.7\text{Hz}$ , H-3 $\alpha$ ), 5.40 (1H, br s, H-12),  $^{13}\text{CNMR}$  (125MHz, 吡啶- $\text{d}_5$ ), 见表 3 和 4; FAB MS  $m/z$  1097 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ .

化合物 F 的理化数据如下所示:

无定形粉末; mp  $209-211^\circ\text{C}$ ;  $[\alpha]_{20}^{\text{D}} -12.1^\circ$  (c 0.12, MeOH);  $\text{IR}_{\text{v}_{\text{max}}}$   $3424$  (OH),  $1734$  (COOR),  $1636$  (C=C),  $1458, 1047\text{cm}^{-1}$ ;  $^1\text{HNMR}$  (500MHz, 吡啶- $\text{d}_5$ )  $\delta$ 0.87 (3H, s, Me), 0.90 (3H, s, Me), 0.92 (3H, s, Me), 1.00 (3H, s, Me), 1.09 (3H, s, Me), 1.22 (3H, s, Me), 1.26 (3H, s, Me), 3.20 (1H, dd,  $J=3.5$  和  $13.6\text{Hz}$ , H-18), 3.33 (1H, dd,  $J=4.4$  和  $11.5\text{Hz}$ , H-3 $\alpha$ ), 5.39 (1H, br s, H-12),  $^{13}\text{CNMR}$  (125MHz, 吡啶- $\text{d}_5$ ), 见表 3 和 4; FAB MS  $m/z$  1127 $[\text{M}+\text{H}]^+$ .



表 3: 化合物 C-F 的糖甙配基部分的  $^{13}\text{C}$ NMR 的数据

| 碳原子 | 化合物 C | 化合物 D | 化合物 E | 化合物 F |
|-----|-------|-------|-------|-------|
| 1   | 38.8  | 38.7  | 38.7  | 38.7  |
| 2   | 26.6  | 26.7  | 26.7  | 26.7  |
| 3   | 88.9  | 89.0  | 89.0  | 89.0  |
| 4   | 39.4  | 39.5  | 39.5  | 39.5  |
| 5   | 55.7  | 55.8  | 55.8  | 55.8  |
| 6   | 18.4  | 18.3  | 18.5  | 18.5  |
| 7   | 33.0  | 33.1  | 33.1  | 33.1  |
| 8   | 39.8  | 39.9  | 39.9  | 39.9  |
| 9   | 47.9  | 48.0  | 48.0  | 48.0  |
| 10  | 36.9  | 37.0  | 37.0  | 37.0  |
| 11  | 23.7  | 23.7  | 23.8  | 23.7  |
| 12  | 122.9 | 122.8 | 123.0 | 122.9 |
| 13  | 144.0 | 144.4 | 144.0 | 144.1 |
| 14  | 42.0  | 42.1  | 42.1  | 42.1  |
| 15  | 28.2  | 28.2  | 28.2  | 28.2  |
| 16  | 23.3  | 23.4  | 23.4  | 23.4  |
| 17  | 46.9  | 46.5  | 47.0  | 47.0  |
| 18  | 41.6  | 41.9  | 41.7  | 41.7  |
| 19  | 46.2  | 46.1  | 46.2  | 46.3  |
| 20  | 30.7  | 30.9  | 30.8  | 30.8  |
| 21  | 33.9  | 34.4  | 34.0  | 34.0  |
| 22  | 32.5  | 33.1  | 32.5  | 32.5  |
| 23  | 28.1  | 28.2  | 28.2  | 28.3  |
| 24  | 17.0  | 17.0  | 17.0  | 17.0  |
| 25  | 15.5  | 15.8  | 15.6  | 15.6  |
| 26  | 17.4  | 17.3  | 17.5  | 17.5  |
| 27  | 26.0  | 26.1  | 26.1  | 26.1  |
| 28  | 176.4 | 180.2 | 176.5 | 176.5 |
| 29  | 33.1  | 33.2  | 33.2  | 33.2  |
| 30  | 23.6  | 23.7  | 23.7  | 23.7  |

表 4 化合物 C - F 的糖部分的  $^{13}\text{C}$ NMR 的数据

| C-3     | 化合物 C | 化合物 D | 化合物 E | 化合物 F |
|---------|-------|-------|-------|-------|
| Glc1    | 106.9 | 107.0 | 107.0 | 106.9 |
| Glc2    | 75.1  | 75.0  | 75.0  | 75.2  |
| Glc3    | 78.4  | 78.3  | 78.3  | 78.4  |
| Glc4    | 71.6  | 71.5  | 71.5  | 71.5  |
| Glc5    | 77.0  | 77.0  | 77.0  | 77.0  |
| Glc6    | 70.4  | 70.4  | 70.4  | 70.5  |
| Glc'1   | 105.4 | 105.4 | 105.4 | 105.4 |
| Glc'2   | 75.5  | 75.6  | 75.6  | 75.6  |
| Glc'3   | 78.5  | 78.5  | 78.5  | 78.6  |
| Glc'4   | 71.7  | 71.6  | 71.6  | 71.7  |
| Glc'5   | 78.4  | 76.9  | 76.9  | 78.5  |
| Glc'6   | 62.7  | 69.8  | 69.8  | 62.6  |
| Xyl1    |       | 106.0 | 106.0 |       |
| Xyl2    |       | 74.9  | 74.9  |       |
| Xyl3    |       | 78.0  | 78.1  |       |
| Xyl4    |       | 71.1  | 71.1  |       |
| Xyl5    |       | 67.0  | 67.1  |       |
| C-28    |       |       |       |       |
| Glc''1  | 95.7  |       | 95.8  | 95.7  |
| Glc''2  | 74.1  |       | 74.1  | 73.9  |
| Glc''3  | 78.8  |       | 78.9  | 78.7  |
| Glc''4  | 71.0  |       | 71.1  | 70.9  |
| Glc''5  | 79.3  |       | 79.3  | 78.0  |
| Glc''6  | 62.1  |       | 62.2  | 69.3  |
| Glc'''1 |       |       |       | 105.3 |
| Glc'''2 |       |       |       | 75.2  |
| Glc'''3 |       |       |       | 78.5  |
| Glc'''4 |       |       |       | 71.7  |
| Glc'''5 |       |       |       | 78.4  |
| Glc'''6 |       |       |       | 62.7  |

## 生物活性试验

### 试验材料

受试药物：本发明化合物 B 和化合物 F，临用前以蒸馏水（体内试验）或缓冲液（体外试验）配成所需浓度；甲磺丁脲片，宜兴市制药厂产品，批号 960812；降糖灵片，北京制药厂，批号 9506271；优降糖片

(格列本脲片)，天津太平洋制药有限公司，批号 961103，上述药物临用前以蒸馏水配制。

试剂：葡萄糖测定试剂盒（葡萄糖氧化酶-过氧化物酶法），南京建成生物制品有限公司，批号 971016，四氧嘧啶，Sigma 产品，批号 122H33211；盐酸肾上腺素注射液，杭州民生药厂，批号 941210-1；<sup>125</sup>I-胰岛素放射免疫分析药盒，中国原子能科学研究院，批号 IMK414，9712；胆固醇试剂盒，上海荣盛生物技术有限公司，批号 970915；甘油三酯试剂盒，上海荣盛生物技术有限公司，批号 971206；胆固醇（分析纯），上海化学试剂站分装厂，批号 950517；胆酸，Fluka，甲巯基咪唑片，上海天平制药厂，批号 910803；安妥明片，山东泰安制药厂，批号 910410；ADP 钠盐，Fluka；阿斯匹林片，南京金陵制药厂产品。仪器：721 分光光度计，上海第三分析仪器厂；DAM-1 型双道血小板聚集仪，江苏丹阳电子研究所；RDB-1B 蠕动泵，江苏省张家港市仪表仪器总厂；全自动  $\gamma$  计数器，Packard 产品。

动物：昆明种小鼠，体重 18~22g；SD 大鼠；家兔，体重 2.5~3.5kg，均由中国药科大学实验动物中心提供。

#### 试验例 1

本发明化合物 B 对蔗糖引起的大鼠血糖升高的影响

雌性 SD 大鼠，禁食 24 小时，随机分为实验组，一次口服本发明化合物 B 50，100，200mg/kg，阳性对照组分别口服给予降糖灵 100mg/kg，正常组及对照组及空白组口服等容量蒸馏水，给药体积为 10mg/kg，30 分钟后，除正常组外，各组口服蔗糖溶液 1g/kg (5ml/kg)，并分别于其后 30，60，120 分钟，由大鼠眼眶采血 100 $\mu$ l，测定血清葡萄糖含量。

结果，大鼠口服蔗糖后 30，60 分钟内，血糖值明显上升，本发明化合物 B 100mg/kg 在 30 分钟，本发明化合物 B 200mg/kg 和降糖灵 100mg/kg 在 30，60 分钟均使大鼠升高的血糖值显著下降，且两者作用强度相近，结果见表 5。

表 5：本发明对化合物 B 对蔗糖引起的大鼠血糖升高的影响

(X±SD, n=10)

| 组别       | 剂量<br>(mg/kg) | 血糖值 (mmol/L)            |                         |           |
|----------|---------------|-------------------------|-------------------------|-----------|
|          |               | 30 分钟                   | 60 分钟                   | 120 分钟    |
| 正常组      |               | 3.56±0.64               | 4.12±0.72               | 3.76±0.69 |
| 对照组      |               | 6.58±0.87 <sup>△△</sup> | 5.93±1.27 <sup>△△</sup> | 4.54±1.37 |
| 本发明化合物 B | 50            | 6.03±0.86               | 6.42±0.78               | 4.26±1.03 |
|          | 100           | 5.12±1.29 <sup>**</sup> | 5.77±1.09               | 4.53±0.94 |
|          | 200           | 4.43±0.72 <sup>**</sup> | 4.73±0.83 <sup>**</sup> | 4.07±0.70 |
| 降糖灵      | 100           | 4.24±0.87 <sup>**</sup> | 4.74±0.90 <sup>*</sup>  | 4.79±1.03 |

<sup>△△</sup>P<0.01, 与正常组比较; \*P<0.05, <sup>\*</sup>P<0.01, 与对照组比较。

## 试验例 2

本发明化合物 B 对高脂血症大鼠血清甘油三脂、胆固醇含量的影响。

雄性 SD 大鼠, 体重 130 - 170g, 正常组给予普通饲料, 其它各组给予高脂饲料 (1% 胆固醇、10% 猪油、0.3% 胆酸、0.2% 甲硫基咪唑和 88.5% 普通饲料, 自制成块状饲料)。连续 14 天, 大鼠禁食 12 小时后, 按试剂盒法测定大鼠血清甘油三酯及胆固醇含量, 然后, 按血脂值进行随机分组。实验组口服给予化合物 B 50、100、200mg/kg, 阳性对照组分别口服安妥明 100mg/kg, 对照组给予蒸馏水, 给药体积为 10ml/kg, 连续 10 天, 各组在给药前 5 天仍饲以高脂饲料, 后 5 天饲以普通饲料, 末次给药前禁食 11 小时, 给药后 1 小时采血测血清甘油三酯及胆固醇含量。

结果, 大鼠给予高脂饲料 10 天后, 血清甘油三酯及胆固醇含量明显升高, 本发明化合物 B 50、100、200mg/kg 及安妥明 100mg/kg 均使高脂血症大鼠血清甘油三酯及胆固醇水平明显下降, 本发明化合物 B 200mg/kg 的降脂作用与安妥明 100mg/kg 相近, 见表 6

表 6: 本发明化合物 B 对高脂血症大鼠血脂含量的影响 (X±SD, n=9)

- 10 )

| 组别       | 剂量<br>(mg/kg) | 甘油三酯 (mmol/L) |             | 总胆固醇 (mmol/L)           |                         |
|----------|---------------|---------------|-------------|-------------------------|-------------------------|
|          |               | 给药前           | 给药后         | 给药前                     | 给药后                     |
| 正常组      |               | 1.02±0.22     | 1.04±0.15   | 2.43±0.41               | 1.99±0.47               |
| 对照组      |               | 2.64±0.82     | 3.04±0.93   | 4.10±0.51 <sup>△△</sup> | 4.77±0.63 <sup>△△</sup> |
| 本发明化合物 B | 50            | 2.72±0.61     | 2.41±0.44   | 4.29±0.60               | 3.92±0.58**             |
|          | 100           | 2.54±0.90     | 1.75±0.53** | 4.02±0.59               | 2.94±0.66**             |
|          | 200           | 2.72±0.76     | 1.37±0.40** | 4.18±0.61               | 2.31±0.74**             |
| 安妥明      | 100           | 2.51±0.77     | 2.72±0.74   | 4.33±0.51               | 2.15±0.76**             |

<sup>△△</sup>P<0.01, 与正常组比较; \*\*P<0.01, 与对照组比较

### 试验例 3

本发明化合物 B 对体外家兔血小板聚集的影响

家兔心脏穿刺取血, 3.8% 枸橼酸钾抗凝 (1:9) 1000rpm 离心 5 分钟, 取上层作为富血小板血浆 (PRP), 再以 4000rpm 离心 10 分钟, 上清液为贫血小板血浆 (PPP)。将 PPP200μl 移入比浊管, 再加入不同浓度的本发明化合物 B 生理盐水溶液 10μl, 终浓度分别为 250, 500, 1000μg/ml, 阳性对照管加入阿斯匹林生理盐水 10μl, 37℃ 温育 2 分钟后放入测定孔, 搅拌加入 ADP 钠盐生理盐水溶液 10μl, 终浓度为  $1.0 \times 10^{-5}$ M, 在 PAM-1 型血小板聚集仪上观察 3 分钟内的最大聚集率。

结果, 本发明化合物 B 500, 1000μg/ml, 阿斯匹林 250μg/ml 显著抑制家兔血小板聚集。见表 7。

表 7: 本发明化合物 B 对体外家兔血小板聚集的影响 ( $X \pm SD$ ,  $n=8$ )

| 组别       | 终浓度 ( $\mu\text{g/ml}$ ) | 最大聚集率 (%)           | 抑制率 (%) |
|----------|--------------------------|---------------------|---------|
| 对照组      |                          | $47.9 \pm 5.2$      |         |
| 本发明化合物 B | 250                      | $43.6 \pm 7.0$      | 9.0     |
|          | 500                      | $35.9 \pm 4.5^{**}$ | 25.1    |
|          | 1000                     | $27.8 \pm 4.8^{**}$ | 42.0    |
| 阿斯匹林     | 250                      | $23.7 \pm 6.0^{**}$ | 50.3    |

$^{**}P < 0.01$ , 与对照组比较。

#### 试验例 4

本发明化合物 F 对小鼠血糖升高的影响

雄性昆明种小鼠, 随机分成实验组, 分别口服本发明化合物 F 50, 100, 200mg/kg, 阳性对照组分别口服优降糖 50mg/kg, 空白对照组及正常对照组口服等量蒸馏水, 给药体积为 20ml/kg, 连续 7 天, 末次给药前禁食 10 小时, 除正常对照组外, 各组口服给予葡萄糖溶液 2.5g/kg (10ml/kg), 分别于葡萄糖前和葡萄糖后 30 分钟, 由眼眶采血 100 $\mu\text{l}$ , 按葡萄糖氧化酶法, 测定血清中的葡萄糖含量。

结果, 小鼠口服葡萄糖 30 分钟, 血糖明显升高, 本发明化合物 F 100, 200mg/kg 及优降糖 50mg/kg 均显著抑制小鼠血糖升高, 本发明化合物 F 200mg/kg 的降糖作用与优降糖 50mg/kg 相近, 见下表 8。

表 8

| 组别       | 剂量 (mg/kg) | 血糖值 (mmol/L) |                          |
|----------|------------|--------------|--------------------------|
|          |            | 0 (分钟)       | 30 (分钟)                  |
| 正常组      |            | 6.20±1.01    | 6.64±1.04                |
| 对照组      |            | 6.55±1.16    | 13.94±3.22 <sup>△△</sup> |
| 本发明化合物 F | 50         | 6.79±1.16    | 12.01±1.88               |
|          | 100        | 6.09±1.34    | 9.59±2.25**              |
|          | 200        | 6.42±0.99    | 9.16±1.08**              |
| 优降糖      | 50         | 4.48±0.83**  | 8.18±1.72**              |

<sup>△△</sup>P<0.01, 与正常组比较; \*\*P<0.01, 与对照组比较。

#### 试验例 5

本发明化合物 F 对高脂血症大鼠血清甘油三酯、胆固醇含量的影响

雄性 SD 大鼠, 体重 130 - 170g, 正常组给予普通饲料, 其它各组给予高脂饲料 (1% 胆固醇、10% 猪油、0.3% 胆酸、0.2% 甲硫基咪唑和 88.5% 普通饲料, 自制成块状饲料)。连续 14 天, 大鼠禁食 12 小时后, 按试剂盒法测定大鼠血清甘油三酯及胆固醇含量, 然后, 按血脂值进行随机分组。实验组口服给予本发明化合物 F 50、100、200mg/kg, 阳性对照组分别口服安妥明 100mg/kg, 对照组给予蒸馏水, 给药体积为 10ml/kg, 连续 10 天, 各组在给药前 5 天仍饲以高脂饲料, 后 5 天饲以普通饲料, 末次给药前禁食 11 小时, 给药后 1 小时采血测血清中甘油三酯及胆固醇含量。

结果, 大鼠给予高脂饲料 10 天后, 血清甘油三酯及胆固醇含量明显升高, 本发明化合物 F 50、100、200mg/kg 及安妥明 100mg/kg 均使高脂血症大鼠血清甘油三酯及胆固醇水平明显下降, 本发明化合物 F 200mg/kg 的降血脂作用与安妥明 100mg/kg 相近, 见表 9。

表 9: 本发明化合物 F 对高脂血症大鼠血脂含量的影响 ( $X \pm SD$ ,  $n=9-10$ )

| 组别           | 剂量<br>(mg/kg) | 甘油三酯 (mmol/L)   |                      | 总胆固醇 (mmol/L)                  |                                |
|--------------|---------------|-----------------|----------------------|--------------------------------|--------------------------------|
|              |               | 给药前             | 给药后                  | 给药前                            | 给药后                            |
| 正常组          |               | $1.02 \pm 0.22$ | $1.02 \pm 0.15$      | $2.43 \pm 0.41$                | $1.97 \pm 0.47$                |
| 对照组          |               | $2.64 \pm 0.82$ | $3.02 \pm 0.93$      | $4.10 \pm 0.51^{\Delta\Delta}$ | $4.75 \pm 0.63^{\Delta\Delta}$ |
| 本发明化<br>合物 F | 50            | $2.72 \pm 0.61$ | $2.40 \pm 0.44$      | $4.29 \pm 0.60$                | $3.90 \pm 0.58^{**}$           |
|              | 100           | $2.54 \pm 0.90$ | $1.73 \pm 0.53^{**}$ | $4.02 \pm 0.59$                | $2.92 \pm 0.66^{**}$           |
|              | 200           | $2.72 \pm 0.76$ | $1.35 \pm 0.40^{**}$ | $4.18 \pm 0.61$                | $2.30 \pm 0.74^{**}$           |
| 安妥明          | 100           | $2.51 \pm 0.77$ | $2.70 \pm 0.74$      | $4.33 \pm 0.51$                | $2.13 \pm 0.76^{**}$           |

$^{\Delta\Delta}P < 0.01$ , 与正常组比较;  $^{**}P < 0.01$ , 与对照组比较

#### 试验例 6

本发明化合物 F 对体外家兔血小板聚集的影响

家兔心脏穿刺取血, 3.8% 枸橼酸钾抗凝 (1:9) 1000rpm 离心 5 分钟, 取上层作为富血小板血浆 (PRP), 再以 4000rpm 离心 10 分钟, 上清液为贫血小板血浆 (PPP)。本发明化合物 F 终浓度分别为 250, 500, 1000 $\mu\text{g/ml}$ , 阳性对照管加入阿斯匹林生理盐水溶液 10 $\mu\text{l}$ , 终浓度为 250 $\mu\text{g/ml}$ , 空白对照管加入生理盐水 10 $\mu\text{l}$ , 终浓度为  $1.0 \times 10^{-5}\text{M}$ , 在 PAM-1 型血小板聚集仪上观察 3 分钟内的最大聚集率。

结果本发明化合物 F 500, 1000 $\mu\text{g/ml}$ , 阿斯匹林 250 $\mu\text{g/ml}$  显著抑制家兔血小板聚集, 结果见表 10。



表 10: 本发明化合物对体外家兔血小板聚集的影响 ( $X \pm SD$ ,  $n=8$ )

| 组别       | 终浓度 ( $\mu\text{g/ml}$ ) | 最大聚集率 (%)           | 抑制率 (%) |
|----------|--------------------------|---------------------|---------|
| 对照组      |                          | $47.9 \pm 5.2$      |         |
| 本发明化合物 F | 250                      | $43.8 \pm 7.0$      | 9.3     |
|          | 500                      | $36.0 \pm 4.5^{**}$ | 25.3    |
|          | 1000                     | $28.0 \pm 4.8^{**}$ | 42.2    |
| 阿斯匹林     | 250                      | $24.0 \pm 6.0^{**}$ | 50.3    |

$^{**}P < 0.01$ , 与对照组比较。

#### 试验例 7

##### 化合物 B 对正常小鼠血糖的影响

雄性昆明种小鼠, 随机分组, 实验组口服给予化合物 B 50, 100, 200mg/kg, 阳性对照组分别口服给予甲苯磺丁脲 100mg/kg, 空白对照组给予等容量蒸馏水, 给药体积为 20ml/kg, 连续 14 天, 分别于给药首日及药后第 3, 7, 14 天, 预禁食 5 小时后给药, 药后 3 小时由眼眶采血约 10 $\mu\text{l}$ , 分离血清, 按试剂盒法测定小鼠血清葡萄糖浓度。

结果化合物 B 50, 100, 200mg/kg, 连续口服给药 14 天, 对正常小鼠血糖无明显影响, 而甲苯磺丁脲自给药后第 3 天始, 即显示显著的降糖作用, 见表 11。

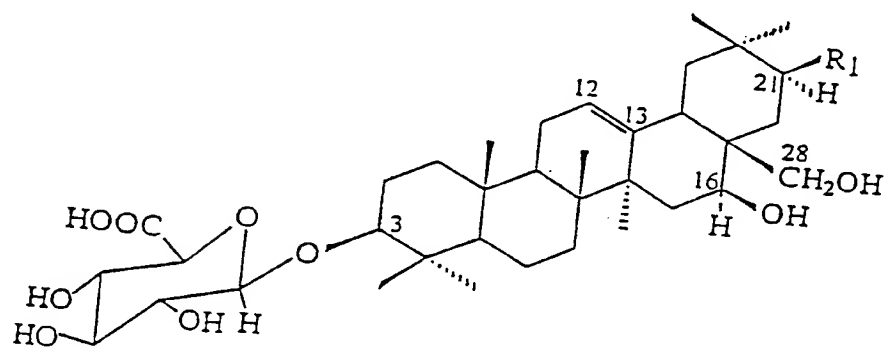
表 11. 化合物 B 对正常小鼠血清葡萄糖含量的影响 ( $X \pm SD$ ,  $n=10$ )

| 组别    | 剂量<br>(mg/kg) | 血糖浓度 (mmol/L)   |                      |                 |                      |
|-------|---------------|-----------------|----------------------|-----------------|----------------------|
|       |               | 1               | 3                    | 7               | 14 (天)               |
| 对照组   |               | $5.21 \pm 1.10$ | $7.10 \pm 1.30$      | $8.56 \pm 0.74$ | $7.52 \pm 1.29$      |
| 化合物 B | 50            | $5.84 \pm 0.94$ | $7.56 \pm 0.92$      | $8.51 \pm 1.06$ | $8.27 \pm 0.66$      |
|       | 100           | $6.48 \pm 1.28$ | $7.73 \pm 2.26$      | $8.71 \pm 0.97$ | $7.45 \pm 1.59$      |
|       | 200           | $6.41 \pm 1.04$ | $6.28 \pm 1.19$      | $8.46 \pm 0.88$ | $7.86 \pm 1.56$      |
| 甲磺丁脲  | 100           | $6.48 \pm 1.18$ | $5.22 \pm 0.80^{**}$ | $6.62 \pm 0.96$ | $5.75 \pm 1.02^{**}$ |

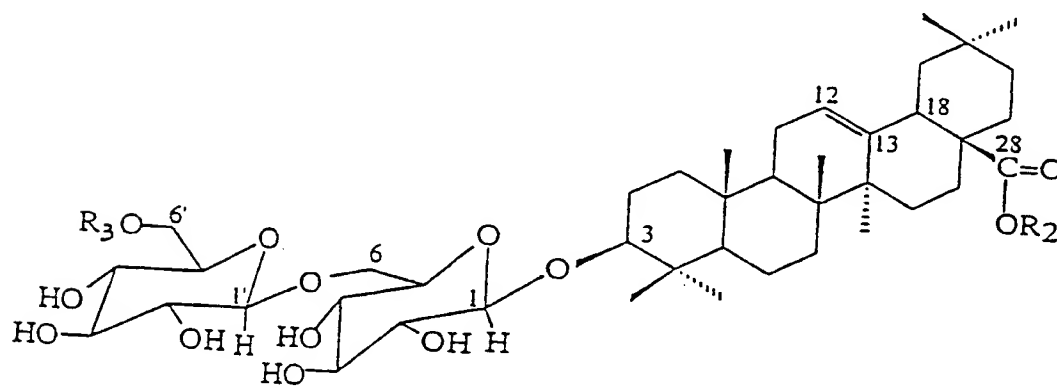
$^{**}P < 0.05$ , 与对照组比较。

# 权 利 要 求

1. 式 I 或式 II 的匙羹藤酸衍生物或其药用碱加成盐,

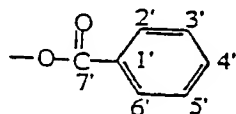


式 I

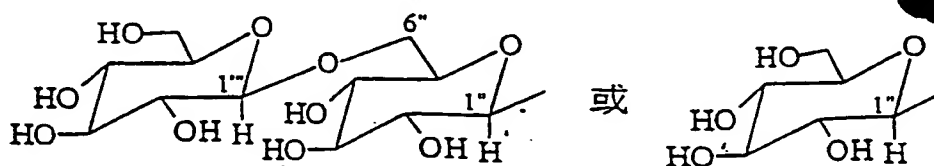


式 II

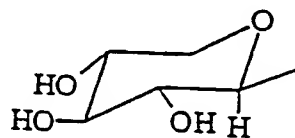
其中  $R_1$  为氢原子或下式基团



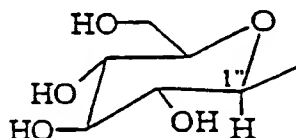
$R_3$  为氢原子,  $R_2$  为下式基团, 或



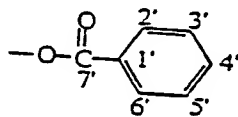
$R_3$  为下式基团



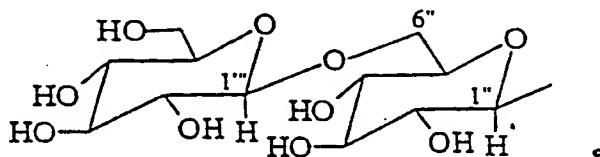
$R_2$  为氢原子或下式基团



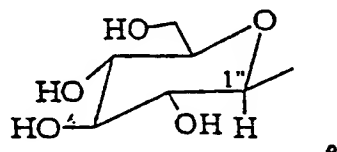
2. 权利要求 1 的匙羹藤酸衍生物, 其中在式 I 中  $R_1$  为氢原子。
3. 权利要求 1 的匙羹藤酸衍生物, 其中在式 I 中  $R_1$  为下式基团



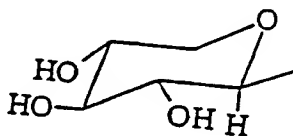
4. 权利要求 1 的匙羹藤酸衍生物, 其中在式 II 中  $R_3$  为氢原子,  $R_2$  为下式基团



5. 权利要求 1 的匙羹藤酸衍生物, 其中在式 II 中  $R_3$  为氢原子,  $R_2$  为下式基团

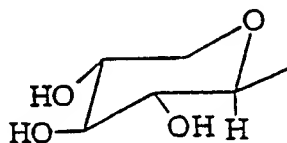


6. 权利要求 1 的匙羹藤酸衍生物, 其中在式 II 中  $R_3$  为下式基团

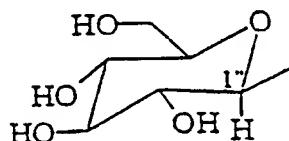


$R_2$  为氢原子。

7. 权利要求 1 的匙羹藤酸衍生物, 其中在式 II 中  $R_3$  为下式基团。



$R_2$  为下式基团



8. 药物组合物, 其包括至少一种式 I 或式 II 匙羹藤酸衍生物或其药用碱加成盐或式 I 和式 II 匙羹藤酸衍生物或其药用碱加成盐, 及药用载体或赋形剂。
9. 用于预防或治疗与高血糖、高血脂和血小板凝集有关疾病或症状的药物组合物, 其包括至少一种式 I 或式 II 匙羹藤酸衍生物或其药用碱加成盐或式 I 和式 II 匙羹藤酸衍生物或其药用碱加成盐, 及药用载体或赋形剂。
10. 权利要求 8 或 9 的组合物, 其含式 I 和/或式 II 匙羹藤酸衍生物, 其中按重量计, 化合物 A、B、C、D、E、F 的含量分别为: 1.25 - 2.10% 化合物 A, 0.89 - 1.50% 化合物 B, 2.40 - 3.80% 化合物 C, 2.10 - 3.40% 化合物 D, 2.74 - 4.60% 化合物 E 和 3.24 - 5.40% 化合物 F。
11. 含 12.5 - 40 重量% 式 I 和式 II 匙羹藤酸衍生物的匙羹藤提取物。
12. 式 I 或式 II 匙羹藤酸衍生物或其药用碱加成盐或式 I 和式 II 匙羹藤酸衍生物或其药用碱加成盐在制备用于预防或治疗与高血糖、高血脂或血小板凝集有关疾病或症状的药物中用途。
13. 制备式 I 或 II 匙羹藤酸衍生物或其药用碱加成盐的方法, 其包括下列步骤:

- a) 用乙醇回流提取选自匙羹藤的植物。浓缩;
- b) 用环己烷提取 a) 中浓缩液, 再用正丁醇提取, 减压浓缩至干,

得浸膏；

c) 将 b) 中浸膏在硅胶柱层析上洗脱，洗脱剂为氯仿：甲醇=90:10 - 50:50 或 90:10 - 60:40，得式 I 是姜藤酸衍生物及剩余物。

d) 将步骤 (c) 得到的剩余物进行  $C_{18}$  柱层析，洗脱剂为甲醇/水 (20:80 - 40:60)，得式 II 是姜藤酸衍生物；

e) 如必要，将所得式 I 或式 II 是姜藤酸衍生物用无机碱或有机碱转化成其药用碱加成盐。



# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN00/00010

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07H15/256, C07J63/00, A61K31/70, A61K35/78

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED C07H15/256, C07J63/00, A61K35/78, A61K31/70

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC7 C07H15/256, C07J63/00, A61K31/70, A61K35/78

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

WPI.EPODOC.PAJ.CAPLUS.Gymnemic acid, derivative, and its structures

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

Chinese Patent Documents

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|-----------|--|-----------------------|
| Y         | US-A-5843909   | 1-13                  |
| Y         | EP-A1-0406516  | 1-13                  |
| A         | Chem. Pharm. Bull. 37(3)852-854, 1989  | 1-7, 13               |
| A         | Tetrahedron Letters Vol. 30 No. 12, pp 1547-1550, 1989                             | 1-7, 13               |

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ See patent family annex.

### \* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"I" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim (S) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search  
20 April, 2000(20.04.2000)

Date of mailing of the international search report  
**27 APR 2000 (27.04.00)**

Name and mailing address of the ISA/CN  
6 Xitucheng Rd., Jimen Bridge, Haidian District,  
100088 Beijing, China  
Facsimile No. 86-10-62019451

Authorized officer

Telephone No. 62093843

文刘  
Liu Yawen  
印亚

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**  
Information on patent family members

International application No.  
PCT/CN00/00010

| Patent document<br>cited in the search report | Publication date | Patent family members | Publication date |
|---|------------------|-----------------------|------------------|
| US-A-5843909                                  | 1 Dec., 1998     | none                  |                  |
| EP-A1-0406516                                 | 9 Jan., 1991     | KR 9403940            | 9 May, 1994      |



# 国际检索报告

国际检索号

PCT/CN00/00010

## A. 主题的分类

C07H15/256, C07J63/00, A61K31/70, A61K35/78

按照国际专利分类表(IPC)或者同时按照国家分类和 IPC 两种分类

B. 检索领域 C07H15/256, C07J63/00, A61K35/78, A61K31/70

检索的最低限度文献(标明分类体系和分类号)

IPC7 C07H15/256, C07J63/00, A61K31/70, A61K35/78

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

中国专利文献

在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称和, 如果实际可行的, 使用的检索词)

WPI, EPODOC, PAJ, CAPLUS, 匙羹藤酸、衍生物及其结构式

## C. 相关文件

| 类型* | 引用文件, 必要时, 指明相关段落                                      | 相关的权利要求编号 |
|-----|--|-----------|
| Y   | US-A-5843909   | 1-13      |
| Y   | EP-A1-0406516  | 1-13      |
| A   | Chem. Pharm. Bull. 37(3)852-854, 1989                  | 1-7, 13   |
| A   | Tetrahedron Letters Vol. 30 No. 12, pp 1547-1550, 1989 | 1-7, 13   |

☐ 其余文件在 C 栏的续页中列出。

☒ 见同族专利附件。

\* 引用文件的专用类型:

"A" 明确叙述了被认为不是特别相关的一般现有技术的文件  
 "E" 在国际申请日的当天或之后公布的在先的申请或专利  
 "L" 可能引起对优先权要求的怀疑的文件, 为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件  
 "O" 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件  
 "P" 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件

"T" 在申请日或优先权日之后公布的在后文件, 它与申请不相抵触, 但是引用它是为了解释构成发明基础的理论或原理  
 "X" 特别相关的文件, 仅仅考虑该文件, 权利要求所记载的发明就不能认为是新颖的或不能认为是有创造性  
 "Y" 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 权利要求记载的发明不具有创造性  
 "&" 同族专利成员的文件

国际检索实际完成的日期

20 日 4 月 2000 年(20.04.2000)

国际检索报告邮寄日期

27. 4月 2000 (27.04.00)

国际检索单位名称和邮寄地址

ISA/CN

中国北京市海淀区西土城路 6 号(100088)

传真号: 86-10-62019451

受权官员

刘亚文

电话号码: 86-10-62093843

国际检索报告  
关于同族专利成员的情报

国际申请号  
PCT/CN00/00010

| 检索报告中引用的<br>专利文件 | 公布日期            | 同族专利成员     | 公布日期           |
|------------------|-----------------|------------|----------------|
| US-A-5843909     | 1998 年 12 月 1 日 | 无          |                |
| EP-A1-0406516    | 1991 年 1 月 9 日  | KR 9403940 | 1994 年 5 月 9 日 |